FR

Anti-EBV EBNA IgG ELISA

Test immunoenzymatique pour la détection *in vitro* des anticorps IgG dirigés contre l'antigène nucléaire 1 (EBNA-1) du virus d'Epstein-Barr (EBV) p72 dans le sérum ou le plasma

Conditionnement

REF [3] 807 017 96 tests IVD coffret de tests complets

Irritant

Usage prévu

Le test Anti-EBV EBNA IgG ELISA est un test de diagnostic *in vitro* IVD pour la détection d'anticorps IgG dirigés contre l'antigène EBNA-1 p72 de l'EBV. Les résultats obtenus dans ce test, associés à d'autres données cliniques et d'autres informations sur le patient obtenues dans des analyses d'autres anticorps spécifiques du virus d'Epstein-Barr comme les tests anti-EA IgM/IgG et anti-VCA IgG/IgM aident à poser le diagnostic sérologique d'une infection par EBV. Une primo-infection par EBV peut donner une mononucléose infectieuse (IM = maladie de Pfeiffer, 1,2). La maladie atteint le plus souvent les grands adolescents et les jeunes adultes. La maladie aiguë peut donner les symptômes suivants: fièvre, angine, amygdalite, lymphadénopathie, malaise, maux de tête, myalgies, spléno- et hépatomégalie, éruption cutanée et leucocytose (2). D'autres agents pathogènes infectieux comme le cytomégalovirus, Toxoplasma gondii, le virus de la rubéole, les virus de l'hépatite, le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) peuvent donner des symptômes similaires. Le test peut être utilisé pour différencier les étapes primaires et tardives d'une infection par l'EBV et il joue un rôle central dans le diagnostic de l'EBV.

Principe de la méthode

Le test Anti-EBV EBNA IgG ELISA est un test immunoenzymatique indirect avec antigène adsorbé (ELISA) très sensible, pour la détection d'anticorps spécifiques de l'EBV dans le sérum ou le plasma. Pendant la première étape d'incubation, les anticorps IgG de l'échantillon vont se lier à l'antigène recombinant (rec.) EBNA-1 p72 (4-6) tapissant la MTP. Les matières non-spécifiques seront éliminées par lavage. Le complexe anticorps-antigène formé est détecté en utilisant un anticorps monoclonal spécifique, marqué par une enzyme, dirigé contre l'IgG humaine. Le conjugué lié de façon non spécifique est éliminé par une autre étape de lavage. Pendant la dernière incubation, la solution de substrat (TMB, 3,3´5,5´-tétraméthylbenzidine) est introduite dans les puits. La réaction enzymatique est arrêtée par addition d'acide sulfurique (la couleur passe du bleu au jaune) et la densité optique est mesurée avec un spectrophotomètre à 450 nm et avec une longueur d'onde de référence de 615-690 nm.

La trousse contient

MTP	1	**Microplaque** 12 barrettes sécables de 8 puits chacune, tapissés par rec. EBV-EBNA-1 p72 antigen (concentration: > 0.05 µg/ml).
NC	1,2 ml	**Contrôle EBV EBNA IgG-négatif** (prêt à l'emploi, humain) conservateur: 0,005 % de gentamicine, 0,05 % de streptomycine, 0,05 % de pénicilline V.
PC	1,2 ml	**Contrôle EBV EBNA IgG-positif** (prêt à l'emploi, humain) conservateur: 0,005 % de gentamicine, 0,05 % de streptomycine, 0,05 % de pénicilline V.
STD	1,2 ml	**Etalon EBV EBNA IgG** (prêt à l'emploi, humain) conservateur: 0,005 % de gentamicine, 0,05 % de streptomycine, 0,05 % de pénicilline V.
DIL	45 ml	**Diluant de l'échantillon** (prêt à l'emploi) conservateur: 0,01 % de sulfate de néomycine, 0,03 % de chloramphénicol
CONJ	15 ml	**Conjugué d'anti-IgG humain, anticorps monoclonal, marqué par de la peroxydase** (prêt à l'emploi) Conservateur: 0,025% de pénicilline V, 0,025% de sulfate de streptomycine, 0,2% de Proclin-300.
WB	6 ml	**Tampon de lavage concentré** (500 x) conservateur: 0,01 % de 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol
SUB	13 ml	**Solution de substrat** (prête à l'emploi) Solution de 3,3´,5,5´-tétraméthylbenzidine (TMB) < 0,05 % dans H_2O. Voir avertissement et précautions.
STOP	15 ml	**Solution d'arrêt** (prête à l'emploi) Acide sulfurique < 1 N H_2SO_4
SB	1	**Sachet de conservation:** sachet en polyéthylène pour conserver les barrettes de microplaques inutilisées.
FOL	3	**Feuilles transparentes auto-adhésives:** Feuilles transparentes auto-adhésives pour recouvrir les puits des microplaques pendant l'incubation.
	1	**Notice du coffret**

Conservateurs: concentration totale < 0,11%

Matériaux nécessaires, mais non fournis avec la trousse

micropipettes, photomètre spectral (450 nm, longueur d'onde de référence 615 – 690 nm), laveur de microplaques (lavage de fond) et incubateur à 37°C pour les MTP.

Avertissement et précautions

Conjugué est irritant (Proclin-300). Ne pas incorporer de réactifs. Eviter le contact avec les yeux et la peau. Traiter tous les échantillons et les matières utilisées pour le test comme des produits potentiellement infectieux et prendre les mesures de sécurité appropriées. Les contrôles sont négatifs pour anti-HIV 1/2, anti-HCV, HB_SAg, anti-syphilis et les transaminases élevées. Ne pas pipeter à la bouche. Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, porter des gants, une blouse de laboratoire et des lunettes de sécurité. Décontaminer les matières liquides et non-combustibles avec de l'hypochlorite de sodium (concentration finale: 3 %, temps d'action, au moins 30 minutes). Neutraliser obligatoirement les déchets liquides contenant des acides avant leur élimination. Autoclaver obligatoirement les MTP utilisées et les matières à réemployer pendant 1 heure à 121°C. La SUB est sensible à la lumière et doit être mise à l'abri de celle-ci. Le test doit être exécuté par des techniciens de laboratoire bien formés et agréés. Exécuter le test dans des conditions aseptiques et microbiologiquement contrôlées. En cas de trousse d'origine détériorée, en informer le fabricant.

Stockage

Les réactifs, s'ils sont stockés à 2-8°C, sont stables jusqu'aux dates de péremption figurant sur chaque étiquette individuelle. Après ouverture des réactifs, ceux-ci doivent être utilisés dans les 30 jours. En cas de répétition de tests, conserver les réactifs, immédiatement après usage, à 2-8°C. Enfermer la MTP dans un sachet d'aluminium avec un déshydratant et la mettre à la température ambiante avant ouverture. Remettre les barrettes inutilisées avec le déshydratant dans le sachet refermable et les conserver ainsi à 2-8°C. Ne pas toucher avec les doigts le bord supérieur ni le fond des puits.

Préparation des réactifs

Diluer le tampon de lavage avec de l'eau déminéralisée ou désionisée (1:501). Le tampon ainsi préparé est stable pendant une semaine, conservé à 2-8°C. Tous les autres composants du test sont prêts à l'emploi. Tous les réactifs sont spécifiques d'un lot ; ne pas les utiliser avec des trousses d'autres lots. Ne pas utiliser de réactifs d'autres fabricants.

Préparation des échantillons

Utiliser des échantillons de sérum ou plasma frais, sans hémolyse. Des échantillons de sérum ou de plasma à forte lipémie, ictériques ou à contamination microbienne et des préparations d'immunoglobuline concentrées risquent de donner des résultats de test non fiables. Eviter de congeler et décongeler les échantillons à plusieurs reprises. Si les échantillons doivent être transportés, les emballer conformément aux exigences réglementaires pour le transport de matières infectieuses. Ne pas inactiver les échantillons, car il pourrait se produire des réactions non-spécifiques.

Performance du test

Suivre strictement le protocole (voir la procédure de pipetage).

Dilution des échantillons au 1:21 avec prédilution dans des tubes

Diluer les contrôles PC, NC, STD et les échantillons au 1:21 dans un tube (par exemple, 25 µl de contrôle ou d'échantillon + 500 µl de DIL). Bien mélanger.

Dilution des échantillons au 1:21 avec dilution directement dans la plaque

Pipeter 200 µl de DIL dans chaque puits. Cette dilution directement dans la microplaque convient tout particulièrement bien en cas d'utilisation de dispositifs de pipetage automatiques. Si la dilution est effectuée directement dans la plaque manuellement, il est important d'éviter la fixation non-spécifique de protéines en observant les étapes suivantes: Pipeter premièrement 200 µl de DIL dans le puits, puis ajouter 10 µl d'échantillon ou de témoins. Mélanger de 5 à 7 fois quand on ajoute les 10 µl d'échantillon ou de témoins.

Procédure de lavage

La procédure de lavage constitue un point critique. Un lavage insuffisant entraînerait une mauvaise précision et des réactions non-spécifiques.

L1: lavage manuel: laver 5 fois avec la solution tampon (aspirer le contenu du puits et ajouter 250 µl de solution tampon). Répéter cette étape 5 fois.

L2: lavage automatique: laver 3 fois avec 250 µl de solution tampon en utilisant le programme de lavage automatique.

Tapoter brièvement sur la plaque après lavage. Ne pas laisser la plaque sécher.

Procédure de pipetage pour la détermination qualitative d'IgG (dilution en tube)

Laisser tous les réactifs atteindre la température ambiante avant emploi.				
Pipeter les contrôles et le blanc en dernier. Après pipetage des contrôles et des échantillons, mettre la plaque à incuber immédiatement.				
étape 1	**puits [µl]**			
	A1/B1	C1/ D1	E1/ F1	G1...
Blanc	200 DIL			
NC double test	--	200 NC	--	--
PC double test	--	--	200 PC	--
Echantillon 1:21	--	--	--	200
Recouvrir la MTP en utilisant des feuilles auto-adhésives (inutile dans un processeur ELISA*)				
Incubation **30 ± 1 mn**, 37 ±1° C	Processeur*: **30 ± 1 mn**, 37±1 °C			
Laver 5x (voir. W1)				
WB	550	550	550	550
étape 2	**puits [µl]**			
CONJ	100	100	100	100
Recouvrir la MTP en utilisant des feuilles auto-adhésives (inutile dans un processeur ELISA*).				
Incubation **30 ± 1 mn**, 37 ±1° C	Processeur*: **30 ± 1 mn,**37±1°C			
Laver 5x (voir. W1)				
WB	550	550	550	550
étape 3	**puits [µl]**			
SUB	100	100	100	100
Incubation **30 ± 1 mn**, à la température ambiante dans l'obscurité	Processeur*: **15 ± 1 mn**, à la température ambiante dans l'obscurité			
STOP	100	100	100	100
Mesurer l'extinction immédiatement ou dans les 15 mn suivant l'arrêt, à 450 nm, en utilisant un spectrophotomètre spectral (longueur d'onde de référence: 615 - 690 nm).				

Procédure de pipetage pour la détermination quantitative d'IgG (dilution en tube)

Laisser tous les réactifs atteindre la température ambiante avant emploi.				
Pipeter les contrôles et le blanc en dernier. Après pipetage des contrôles et des échantillons, mettre la plaque à incuber immédiatement.				
étape 1	**puits [µl]**			
	A1/B1	C1/ D1	E1/ F1	G1...
Blanc	200 DIL			
NC double test	--	200 NC	--	--
PC / STD double test	--	--	200 PC / STD	--
Echantillon 1:21	--	--	--	200
Recouvrir la MTP en utilisant des feuilles auto-adhésives (inutile dans un processeur ELISA*)				
Incubation **30 ± 1 mn**, 37 ±1° C	Processeur*: **30 ± 1 mn**, 37±1 °C			
Laver 5x (voir. W1)				
WB	550	550	550	550
étape 2	**puits [µl]**			

CE

BIO-RAD

CONJ	100	100	100	100
Recouvrir la MTP en utilisant des feuilles auto-adhésives (inutile dans un processeur ELISA*).				
Incubation **30 ± 1 mn**, 37 ±1° C	Processeur*: **30 ± 1 mn,**37±1°C			
Laver 5x (voir. W1)				
WB	550	550	550	550
étape 3	**puits [µl]**			
SUB	100	100	100	100
Incubation **30 ± 1 mn**, à la température ambiante dans l'obscurité	Processeur*: **15 ± 1 mn**, à la température ambiante dans l'obscurité			
STOP	100	100	100	100
Mesurer l'extinction immédiatement ou dans les 15 mn suivant l'arrêt, à 450 nm, en utilisant un spectrophotomètre spectral (longueur d'onde de référence: 615 - 690 nm).				

* En cas d'utilisation de processeurs ELISA, l'opérateur doit valider le test sous sa propre responsabilité.

Calcul de la détermination qualitative
Après mesure des valeurs d'extinction à 450 nm dans tous les puits (filtre de référence: 615 - 690 nm), soustraire la valeur moyenne des blancs des valeurs d'extinction des contrôles et des échantillons. Extinction moyenne des blancs ≦ 0,100. Après soustraction du blanc, les valeurs des contrôles doivent satisfaire les critères de validité suivants:
DO moyenne de NC: ≦ 0,200 DO moyenne de PC: ≧ 0,800

Calcul de la détermination quantitative
Le kit comprend une solution standard conforme aux directives RiliBÄK de l'ordre fédéral de médicins allemands (8) pour la détermination quantitative (8).
Après mesure des valeurs d'extinction à 450 nm dans tous les puits (filtre de référence: 615 - 690 nm), soustraire la valeur moyenne des blancs des valeurs d'extinction des contrôles et des échantillons. Extinction moyenne des blancs ≦ 0,100. Après soustraction du blanc, les valeurs des contrôles doivent satisfaire les critères de validité suivants:
DO moyenne de NC: ≦ 0,200 DO moyenne de STD: ≧0,800

Calcul de la valeur seuil et de la zone grise
La valeur seuil est calculée à partir de la DO moyenne des contrôles négatifs (NC $\overline{X}$) à laquelle on ajoute 0,200. Valeur seuil = NC $\overline{X}$ + 0,200. La zone grise s'étend entre la valeur seuil et la valeur seuil moins 20%.

Interprétation du résultat
Les échantillons ayant une valeur d'extinction inférieure à la zone grise sont considérés comme négatifs. Si un échantillon a une valeur d'extinction égale ou supérieure à la zone grise, il est considéré comme positif pour les anticorps IgG spécifiques de l'EBNA de l'EBV. Si la valeur de DO de l'échantillon retesté est dans la zone grise (résultat douteux), nous recommandons de demander un nouveau prélèvement. Pour plus d'informations sur les interprétations du schéma de réactivité (6), un schéma d'interprétation complet est disponible sur demande auprès de Bio-Rad.

Procédure d'analyse (quantification)
Le kit comprend une solution standard conforme aux directives RiliBÄK de l'ordre fédéral de médicins allemands (8) pour la détermination quantitative. Pour effectuer une détermination quantitative, il faut que le résultat du standard se situe dans l'intervalle valide indiqué sur l'étiquette.
Ce test est réalisé comme décrit pour la méthode qualitative. Les NC et STD sont toujours mesurés à une dilution finale de 1:21. Les contrôles doivent être mesurés en double. Un échantillon inconnu doit d'abord être testé à une dilution de 1:21. La sensibilité exigée pour définir l'état immunitaire ne peut être obtenue qu'à cette dilution. Si la DO de l'échantillon dépasse la DO d'etalon, il faut à nouveau mesurer l'échantillon à une plus grande dilution (par exemple prédilution de 1:10 = dilution finale de 1:210). On peut aussi réaliser le test d'emblée à une dilution de 1:210. Cette dilution permet de rendre compte de 85 % d'infections anciennes approximativement. Si les valeurs sont inférieures à la valeur de seuil, ou si la valeur de DO est supérieure au contrôle positif, il faut tester à nouveau l'échantillon à une dilution de 1:21 ou 1:2100, respectivement. Pour que la quantification soit correcte, les condiitons suivantes doivent être respectées:

Valeur seuil ≤ DO de l'échantillon ≤ DO du d'etalon (1:21)

La détermination quantitative se fonde sur un étalonnage en deux points, la courbe d'étalonnage étant déterminée entre la valeur seuil et la valeur moyenne d'etalon (STDx) conformément aux informations spécifiques données pour le lot utilisé. Les valeurs entre les deux limites sont déterminées graphiquement ou mathématiquement.

Détermination graphique:
Les limites de la courbe d'étalonnage sont placées dans un système de coordonnées. L'échelle de l'axe des x s'étend de la DO 0,000 à 2,500 et celle de l'axe des y de 0 à 120 RU/ml. Placer les deux valeurs limites aux coordonnées suivantes (x/y):

Coordonnées de la valeur limite inférieure =	**[DO seuil / 1 RU/ml]**
Coordonnées de la valeur limite supérieure =	**[DO de PC]/ [RU/ml valeur portée par l'étiquette]**

Joindre les deux points par une ligne droite. Les valeurs des DO des échantillons sont lues sur la courbe d'étalonnage en RU/ml (par déplacement parallèle à partir de l'axe des x en utilisant une règle). Si un échantillon a été dilué à plus de 1:21, la valeur déterminée à partir du graphe doit être multipliée par le facteur de prédilution (par exemple, valeur mesurée x 10 pour une dilution de 1:210).
Détermination mathématique:
La valeur RU/ml d'un échantillon testé à la dilution de 1:21 est calculée par l'équation suivante:

$$\text{RU/ml de l'échantillon} = (\text{RU/ml STD} - 1) \times \frac{\text{DO de l'échantillon - seuil}}{\text{DO de STD (1:21)- seuil}} + 1$$

Pour la détermination quantitative d'un échantillon dilué à plus de 1:21, la valeur obtenue par le calcul ci-dessus doit être multipliée par le facteur de prédilution. Exemple: pour un échantillon mesuré à une dilution de 1:210 (facteur de prédilution = 10):

RU/ml de l'échantillon (à 1:210) = RU/ml de l'échantillon (calculé d'après la formule) x 10

Interprétation et informations
Les valeurs quantitatives déterminées sont spécifiques du test et ne sont pas comparables avec les valeurs déterminées en utilisant les tests Anti-EBNA-1-IgG d'autres fabricants. La définition des RU/ml est basée sur un sérum étalon spécifique Anti-EBNA-1-IgG utilisé par Bio-Rad en interne pour standardiser l'étalon fourni avec la trousse de test. Les résultats communiqués doivent souligner ce point par l'addition d'une remarque (par exemple, "unités Anti-EBNA-1-IgG de Bio-Rad"). Cependant, la constance des résultats de cette méthode quantitative obtenus pour les divers lots de trousses de test est garantie par des tolérances de fabrication normales. La valeur quantitative ne correspond pas au titre au point de virage de l'échantillon. En première approximation, cependant, la valeur quantitative est proportionnelle au titre au point de virage. Dans le cas d'un ensemble de résultats douteux, de faibles valeurs quantitatives Anti-EBNA-1-IgG (<100 RU/ml) peuvent conforter le diagnostic de primo-infection, en particulier si les valeurs augmentent nettement dans les échantillons ultérieurs. Par contre des valeurs élevées (>100 RU/ml) sont plus en faveur d'une infection après la phase aiguë ou d'une infection ancienne. Pendant un traitement immunosuppresseur ou en relation avec une immunodéficience acquise (SIDA), les quantités d'IgG anti-EBNA, importantes à l'origine, peuvent diminuer fortement dans le temps, parfois même pour devenir inférieures à la limite de détection. En outre, il a été observé qu'une petite partie (1,2%) des individus sains ayant eu une infection par EBV (infection latente) et étant positifs dans le test anti-VCA IgG étaient négatifs dans le test anti-EBNA IgG [14]. Plus rarement (<1%), il existe des individus apparemment sains chez lesquels on n'a jamais pu détecter les anticorps EBNA (sujets ne répondant pas aux EBNA) [1]. Par conséquent, il est en général recommandé d'appliquer la sérologie anti-EBV VCA IgG (N° cat. Bio-Rad. 807 019) dans les cas où il faut déterminer l'état immunitaire vis-à-vis de l'EBV. Les distributions observées pour les valeurs quantitatives de IgG anti-EBNA chez les individus sains (N = 100, dons de sang) sont les suivantes, en RU/ml: 38,5 % (1 à 100 RU/ml), 55,1 % (100 à 1000 RU/ml) et 6,4 % (1000 à 4000 RU/ml. Approximativement 94 % des adultes sains ont des concentrations d'anticorps entre 1 et 1000 RU/ml. Cela peut être considéré comme "l'intervalle normal".

Limitations de la méthode
Un résultat de test négatif obtenu dans le test Anti-EBV EBNA IgG ELISA n'exclut pas totalement une infection par l'EBV. Les résultats du test doivent être utilisés conjointement avec les informations disponibles sur l'évaluation clinique du patient et les autres procédures de diagnostic existantes. Les résultats des tests de patients immunodéprimés peuvent être difficiles à interpréter (1). Des résultats de test positifs peuvent ne pas être valides chez des personnes ayant reçu des transfusions sanguines ou d'autres produits sanguins au cours des derniers mois. Le test Anti-EBV EBNA IgG ELISA a été analysé avec les échantillons suivants, susceptibles de donner une réaction croisée: sérums anti-virus de la varicelle-positifs (50), sérums anti-cytomégalovirus-positifs (16) et sérums anti-Herpes simplex type 1 et 2 (27). Aucun des échantillons n'a été positif dans le test Anti-EBV EBNA IgG ELISA.

Performance
Les résultats obtenus dans le test Anti EBV EBNA IgG associés à d'autres tests tels que anti-EA IgM/IgG and anti-VCA IgM/IgG facilitent le diagnostic sérologique d'une infection par l'EBV (4-7). La sensibilité du système de test ELISA dans ces trois tests a été trouvée chez les patients IM égale à 99,2 %. La spécificité a été trouvée égale à 98,8% (5).

Etude de la précision
Un panel de 10 sérums représentant des échantillons peu réactifs et très réactifs a été testé sur 10 jours différents. La variabilité inter-séries pour ces sérums a été trouvé égale à 7,7% - 16,5%.
Les échantillons de ce même panel ont été testés huit fois dans une série de tests. La variabilité intra-séries pour ces sérums était de 4,8% - 15,4%.

Valeurs attendues
Quatre-vingt-dix-neuf échantillons de sérums provenant de donneurs de sang asymptomatiques, sains, ont été testés par le test EBNA IgG ELISA de Bio-Rad. Sur les 99 échantillons, 92 ont été trouvés positifs (92,93%) et 7 ont été trouvés négatifs (7,07%). Ces chiffres sont en accord avec les valeurs publiées pour la prévalence de l'exposition à l'EBV dans la population adulte. La prévalence peut varier selon divers facteurs comme la localisation géographique, l'âge, l'état socioéconomique, la race, le type de test utilisé, les procédures de prélèvement et de manipulation des échantillons, les antécédents cliniques et épidémiologiques (6, 7). Les sérums de patients ayant été atteints de maladies dues au CMV (20), au toxoplasme (20) et de maladies rhumatoïdes (20) ont été analysés. En utilisant le système EA IgM, EA IgG et EBNA IgG ELISA, 7, 17 et 29 échantillons ont pu être identifiés comme correspondant à une primo-infection, une infection réactivée et une infection ancienne par l'EBV (5).

Littérature

1. Linde, A. (1992). *Rev. Med. Microbiol.* 3, 43-51.
2. Straus, S., Cohen, J.I., Tosato, G. et Meier, J. (1993). *Ann. Int. Med.* 118, 45-58.
3. DIN EN ISO 980 Graphic symbols for use in the labelling of medical devices.
4. Gorgievski-Hrisoho, M., Hinderer, W., Nebel-Schickel, H., Horn, J., Vornhagen, R., Sonneborn, H.-H., H., Wolf, H. et Siegl, G. (1990). *J. Clin. Microbiol.* 26, 2305-2311.
5. Färber, I., Wutzler, P., Wohlrabe, P., Wolf, H., Hinderer, W. et Sonneborn, H. -H. (1993). *J. Virol. Meth*. 42, 301-108.
6. Hinderer, W., Nebel-Schickel, H., Horn, J., Vornhagen, R., Wenger-Süss, R. et Sonneborn, H. -H. (1993). *Biotest Bulletin* 5, 33-46.
7. Tamir, D., Benderley, A., Levy, J. et al. (1974). *Pediatrics* 53, 330.
8. Bundesärztekammer: Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen, 2008

Guide de dépannage
1) Taux élevé, et inattendu, de résultats réactifs. Des échantillons ou des contrôles ont été pipetés avant le pipetage de DIL ou bien le mélange a été insuffisant.
2) Valeur moyenne du blanc supérieure au critère de validité, DO ≧ 0,100:
   a) SUB devenue bleue par oxydation ou contamination.
   b) Erreur de lavage: Effectuer l'étape des 5 cycles de lavage. Si l'on utilise un dispositif de lavage manuel, effectuer 7 cycles de lavage de l'étape de lavage. Utiliser le WB de Bio-Rad contenu dans la trousse.
   c) Erreur d'incubation: température trop haute, durée d'incubation dépassée ou plaque non incubée directement après la fin du pipetage.
   d) Erreur de longueur d'onde: une mesure sans filtre de référence augmentera les valeurs de DO d'approximativement + 0,120
3) Coloration jaune dans tous les puits: (voir 2a, 2b)
   a) WB contaminé ; préparer un nouveau tampon de lavage
   b) DIL ou CONJ contaminé ; répéter le test avec des réactifs provenant de flacons encore fermés. Utiliser les réactifs dans des conditions plus aseptiques.
4) Valeur de DO moyenne de PC, STD inférieure à ≤0,800:
   a) Date de péremption dépassée.
   b) Température trop basse ou durée d'incubation trop faible.
   c) Erreur de lavage: lavage trop intensif ou contact mécanique entre le distributeur et la phase solide du puits.
   d) Contamination de PC, STD ou 3b.
5) Valeur de DO moyenne de NC supérieure à ≧ 0,200: (voir 1 et 2 a-d)
   a) NC n'a pas été pipeté après le pipetage des échantillons ; pipeter tous les échantillons avant de pipeter les blancs et les contrôles.
   b) Contamination par le couvercle du PC, STD

Bio-Rad Medical Diagnostics GmbH
Industriestr. 1, D-63303 Dreieich, Germany
Tel.: +49-6103-801-95, Fax: +49-6103-801-724
www.bio-rad.com, techsupport.bmd@bio-rad.com

CE

187702/12 – 04/2011